

Paraoxonáz polimorfizmus és oxidatív stressz obez és hypertóniás serdülőkben

**Dr. Túri Sándor, Dr. Németh Ilona, Dr. Karg Eszter, Dr. Endreffy Emőke,
Dr. Bereczki Csaba, Dr. Haszon Ibolya**
Szegedi Tudományegyetem Gyermekklinika

A juvenilis essentialis hypertonia pathogenezise komplex folyamat. Eddigi vizsgálataink szerint a juvenilis essenciális hipertóniában a következő mediátorok szerepét mutattuk ki:

Vazoaktiv mediátorok

Renin-angiotenzin rendszer

Thrombocyt: thromboxán, cAMP

Nitrogénmonoxid

Endothelin

Oxidatív stress-antioxidáns rendszer (redukált/oxidált glutathion - GSH/GSSG, plazma sulfhydryl, szuperoxid dizmutáz - SOD, glutathion peroxidáz - GP-áz, kataláz, fero oxidáz - FOX, cöroloplazmin, malonyl dialdehyd - MDA)

Génpolimorfizmusok

Angiotenzinogén

Angiotenzin konvertáló enzim gén

Angiotenzin II. 1. receptor gén

Az antioxidáns anyagokat a következő módon osztályozhatjuk

Proteinek:

enzimek

Szuperoxid dizmutáz

Kataláz

Glutathion peroxidáz

nem enzimek

Haptoglobin

Transferrin

Cöroloplazmin

Kis molekulású anyagok:

vízoldékony

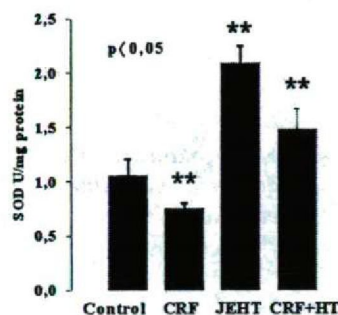
Uric acid

Vitamin C (ascorbid acid)

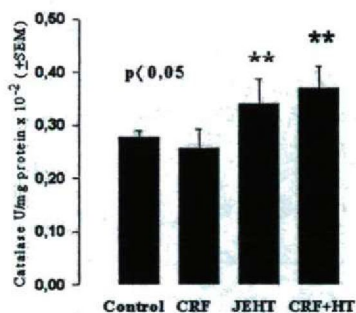
Thiolok

Bilirubin
 zsírban oldódó
 Vitamin E (tocopherol)
 Ubiquinol
 Pro-vitamin A (béta karotin)
 Lycopén
 17-beta ösztadiol

Korábbi vizsgálataink során kimutattuk, hogy az antioxidáns szuperoxid dizmutáz aktivitása fokozott juvenilis essentialis hypertoniában (JEHT) és krónikus veseelégtelenséggel társult hypertoniában (CRF+HT) (1., 2. ábra)

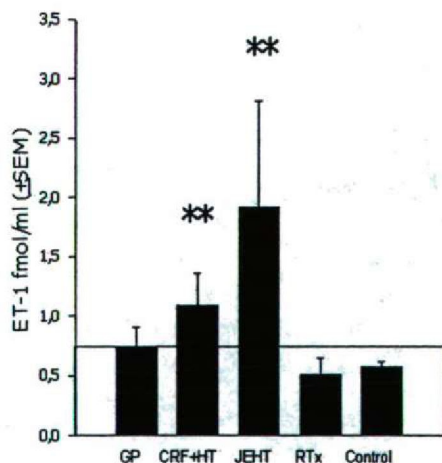


1. ábra Szuperoxid dizmutáz (SOD) aktivitás



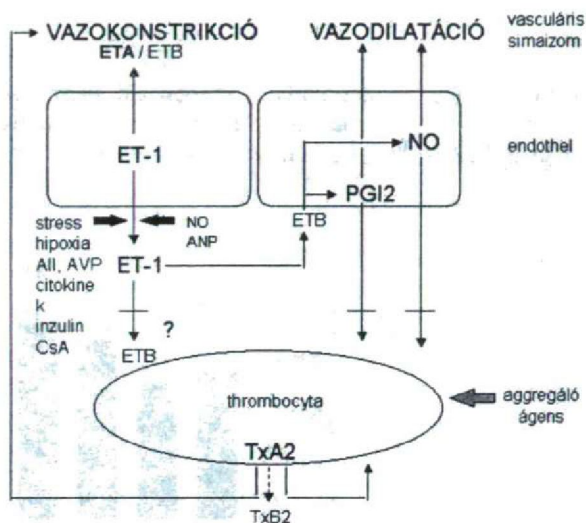
2. ábra Kataláz aktivitás

Juvenilis essentialis hypertoniában (JEHT) és krónikus veseelégtelenséggel társult hypertoniában (CRF+HT) az Endothelin-1 vazokonstriktiót okoz és fokozza a thrombocytáaggregációt. A plazma Endothelin-1 koncentráció szignifikánsabb magasabb.

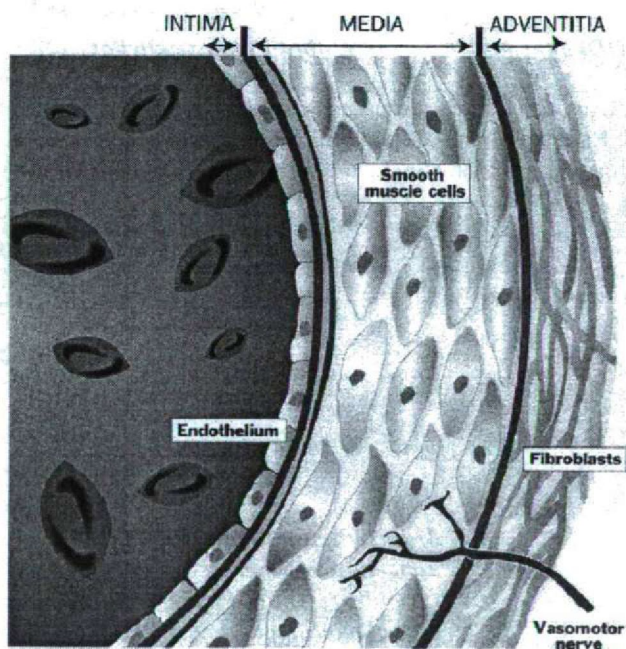


3. ábra Plazma Endothelin-1 koncentráció vesebetegségekben és juvenilis essentialis hypertoniában.
 GP: glomerulopathiák, CRF+HT: krónikus veseelégtelenség+hypertonia, RTx: vesetranszplantált beteg

A vascularis endothelialis sejtek egymás mellett termelik a vazokonstriktós hatású Endothelin-1-t és a vazodilatációt okozó nitrogén-oxidot (NO), valamint prosztaciklint (PGI₂). Ezek a mediátorok kölcsönhatásban lévén befolyásolják egymás termelését (4. ábra).

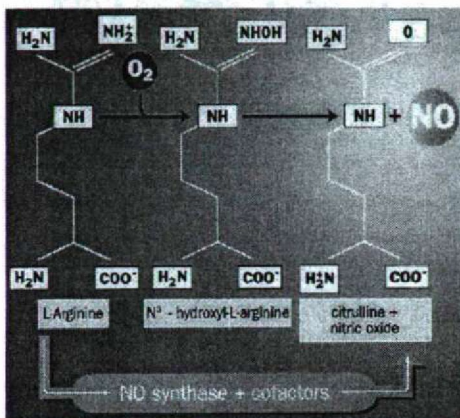


4. ábra Vazokonstriktós és vazodilatációs mediátorok termelése az érfali endothelben



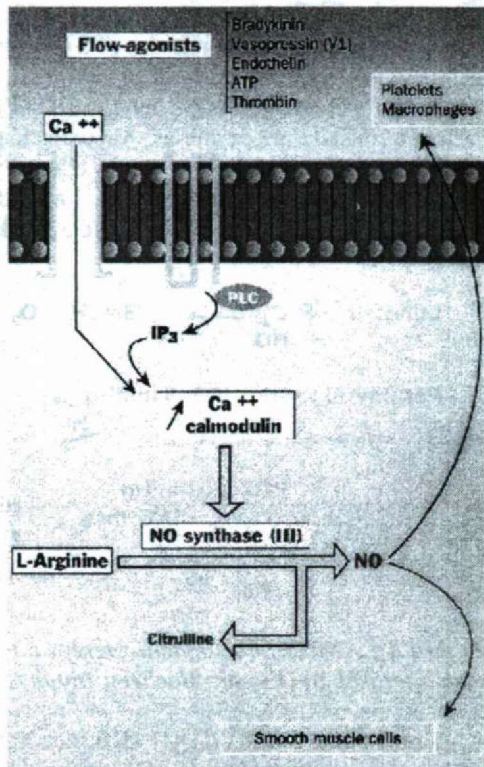
5. ábra Az artériafal struktúrája

A nitrogén-oxid az L-argininből a nitrogén-oxid szintáz hatására több szakaszban keletkezik (6. ábra).



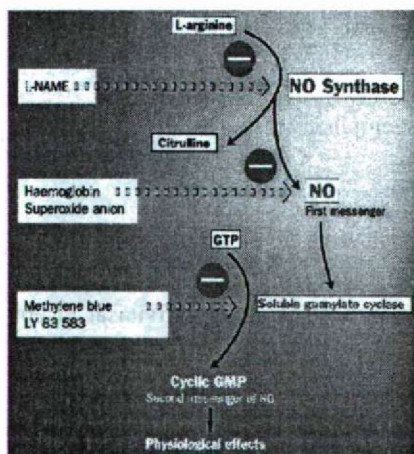
6. ábra Nitrogén-oxid (NO) termelés biokémiai folyamata az argininből.

Az endothelialis nitrogén-oxid szintáz regulálják a kalcium csatornákon keresztül a sejtbejövő és intracellulárisan felszabaduló kalcium, az inozitol trifoszfát (IP₃) és a calmodulin. A keletkezett NO a simaizmokban vazodilatációt, a trombocytákban és makrofágokban aktivitás csökkenést okoz (7. ábra).



7. ábra Az endothelialis nitrogén-oxid szintáz (NOS III) regulációja.

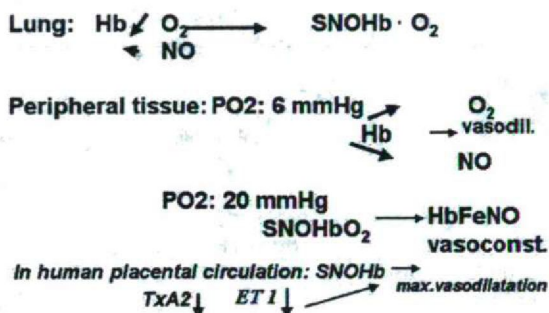
Az NO felszabadulását különböző szinteken működő antagonisták gátolhatják (8. ábra).



8. ábra A különböző szinteken működő NO-kaszád antagonisták.

A krónikus anaemia csökkenti a vascularis rezisztenciát, növekszik a szisztolés volumen. Vörösvértest transzfúzió hatására ez a folyamat az NO termelés gátlása miatt megfordul. (Kidney Int. 1997.)

Az S-Nitrosohemoglobin, amely a HG által a tüdőben felvett NO-ból keletkezik, szerepet játszik a perifériás vazodilatáció ill. a magzati életben a placentáris vazodilatáció fenntartásában, amely ellensúlyozza az itt keletkező ET-I és thromboxán A2 vazokonstriktós hatását. Ott, ahol a perifériás parciális O_2 nyomás magasabb, a HG nem adja le az oxigént és HGFeno keletkezik, amely vazokonstriktós hatású.



9. ábra Az S-Nitrosohemoglobin szerepe a magzati keringés és vérnyomás szabályozásában (Funai, Biochem, Biophys. Res. Com. 1997.)

A szérum paraoxonáz (PON1) HDL-hez kötött antioxidáns enzim, a lipid peroxidokat bontja és megelőzi a HDL és LDL oxidációját.

PON1 aktivitás csökkent atherogenesisrel járó klinikai állapotokban.

A HDL és LDL oxidatív károsítását PON1 genetikai polimorfizmusok befolyásolják:

1. Q192R polimorfizmus

arginin (R_{192}) van a paraoxonáz molekula 192-es helyén a glutamin (Q_{192}) helyett

RR genotípus esetén várható

↓ az antioxidáns védőképesség és

↑ a coronaria arteria betegség rizikója.

2. L54M polimorfizmus esetén a molekula 54-es pozíciójában a:

leucin (L) van a methionin (M) helyett

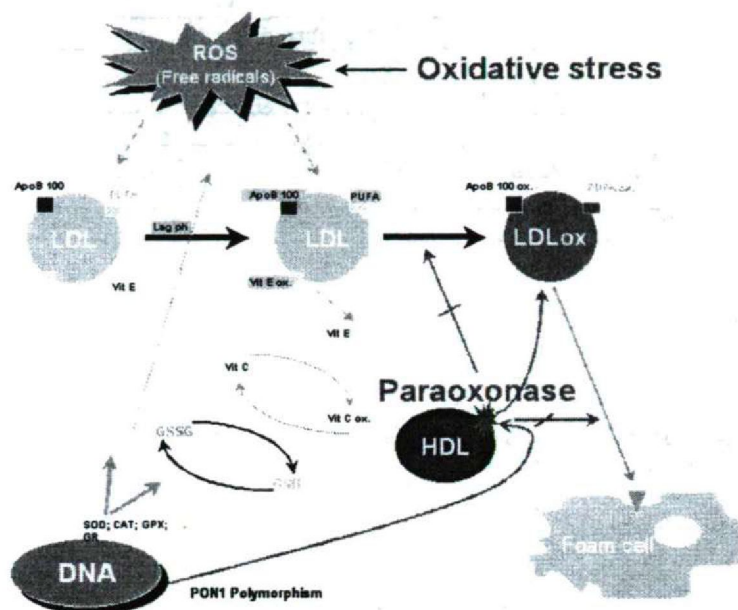
LL genotípus együttjár

↓ antioxidáns védő képességgel és

↑ rizikó a carotis arteriosclerosisra,

↑ rizikó retinopathiára diabetes mellitusban.

3. Különböző promoter régiókban a PON1 enzim koncentrációját és aktivitását kisebb mértékben befolyásolják.



10. ábra A paraoxonáz szerepe a HDL és LDL lipoproteinek védelmében

A SZTE Gyermekgyógyászati Klinikán végzett vizsgálatunk célja volt:
a PON1 aktivitás és az

oxidatív stressz,

endothelium diszfunkció,

atherogenezis rizikó faktorai közötti összefüggés vizsgálata

különböző etiológiájú hypertenziós (urémiás, essentialis hypertoniás) és obese serdülők esetén.

Betegcsoportok

				Nappali ABPM (mmHg)	
	n	Életkor (év) Medián (Q)	BMI (kg/cm ²) átlag + SD	systolés	diastolés
Kontroll	57	15 (14,17)	21 + 3	113 + 5	67 + 6
Uremiás	32	16 (13,19)	19 + 4	157 + 9	89 + 8
Obez	60	14 (13,16)	32 + 3	115 + 5	68 + 7
Essentialis hypertoniás	49	15 (13,17)	20 + 4	154 + 9	99 + 8
Obez + hypertoniás	79	16 (13,18)	33 + 3	155 + 10	100 + 7

		Q 192 R genotípusa		
	n	QQ	QR	RR
Kontroll	57	36	20	1
Uremiás	32	20	11	1
Obez	60	31	27	3
Essentialis hypertoniás	49	26	21	2
Obez + hypertoniás	79	42	31	6*

Módszerek

Paraoxonáz aktivitás– PON1

paraoxon hidrolízis 412 nm-en

PON1 polimorfizmus (Q192R)

Biokémiai módszer

NaCl aktiválta PON/fenil acetát konc. aránya

QQ <2.6; QR 2.6-8.0; RR >8.0

Molekuláris genetikai módszer

real time PCR technológia, Lightcycler

Oxidatív stressz markerek

plasma lipid peroxidációs végtermék

MDA-malondialdehyde- HPLC

vvv GSH és GSSG mérés

Tietze eljárás

Endothelialis dysfunctio mértéke:

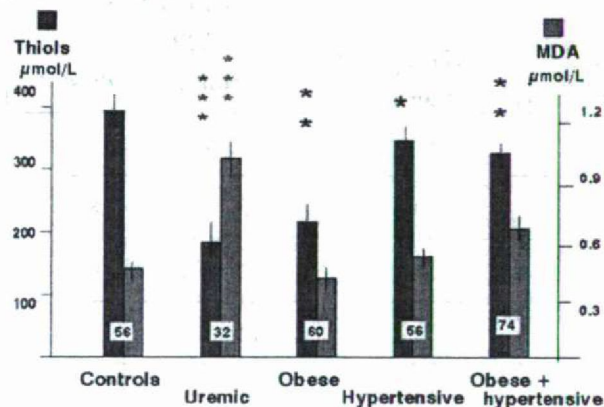
Plazma NO végtermékek: NO_x

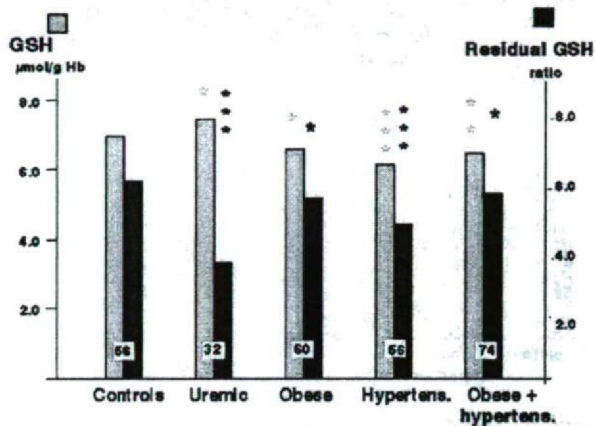
(nitrit+nitrát) – HPLC

MDA/ NO_x – HPLC

Atherogen rizikó faktor értéke:

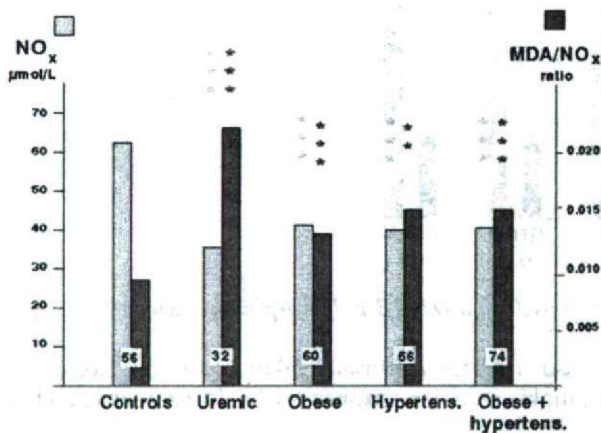
Plazma homocystein – HPLC





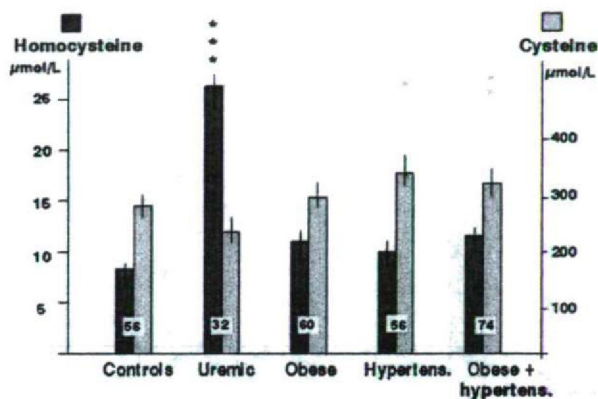
11. ábra az oxidatív stressz markereinek vizsgálata.

A vörös vértest malonil dialdehid (MDA) csak az urémiás hypertóniásokban a plazma szabad thiolok minden betegcsoportban szignifikánsan magasabb koncentrációt mutattak. A redukált glutathion (GSH) az urémiásokban magasabb, a többi betegcsoportban alacsonyabb volt. A glutathion regeneráló képesség minden betegcsoportban alacsonyabb volt (12. ábra)



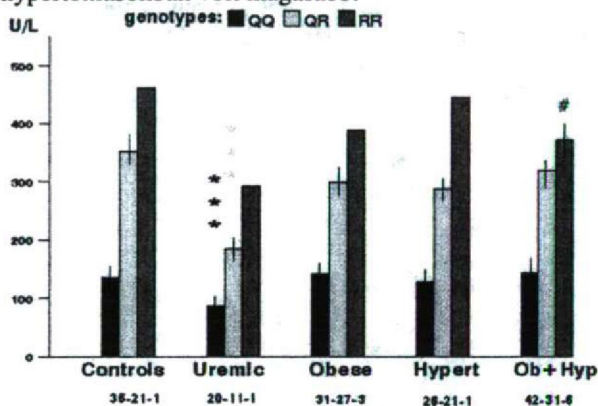
12. ábra Az endothelialis diszfunkció markerei

A plazma NO érték minden betegcsoportban alacsonyabb, az MDA/No (relatív lipidperoxidáció) magasabb volt mint a kontrollokban



13. ábra Az atherogén rizikófaktorok markerei

A plazma homocystein az urémiás hypertóniásokban, a cystein az obez és nem obez hypertóniásokban volt magasabb.



14. ábra A paraoxonáz aktivitás megoszlása a Q192R polymorphismus szerint

Az RR genotípus az obez hypertóniásokban szignifikánsan gyakrabban fordul elő, mint a többi betegcsoportban és a kontrollokban. A paraoxonáz aktivitás az urémiásokban alacsonyabb.

Eredmények

	Oxidatív stressz			PON-1 aktivitás		
	QQ	QR	RR	QQ	QR	RR
Urémiás	↑↑	↑	↑	↓	↓	↓
Obez	↑	↑				↓
Hypertóniás	↑	↑				
Ob + hyper	↑	↑	↑	↑		↓ # (n=6)

	Endothelium diszfunkció		
	QQ	QR	RR
Urémiás	↑	↑	↑
Obez	↑	↑	↑
Hypertoniás	↑	↑	
Ob + hyper	↑	↑	↑

	Atherogenesis		
	QQ	QR	RR
Urémiás	↑	↑	↑
Obez			
Hypertoniás	↑	↑	↑
Ob + hyper	↑	↑	↑

Plazma cystein koncentráció (*atherogén rizikófaktor*) és *PON1* aktivitás korrelációja:
 uremiás betegek (QR) $r = -0,767$ ($n=11$)
 obez + hypertoniás betegek (RR) $r = -0,860$ ($n=6$)

Eredményeinket összegezve az urémiás hypertoniásokban erősen fokozott, a hypertoniásokban, túlsúlyosokban és az obez hypertoniásokban közepesen fokozott az oxidatív stressz. A paraoxonáz aktivitás erősen csökkent az urémiás hypertoniásokban, közepesen csökkent az túlsúlyosokban és az obez-hypertoniásokban.

Az endothelinus diszfunkció minden hypertoniás csoportban és az obez normotoniásokban is fokozott. Az atherogenetikus rizikófaktor minden betegcsoportban erősen fokozott, kivéve az obez normotoniásokat.

Tehát az obezitás indukálta hypertoniás betegekben a fokozott oxidatív stressz együtt járt a vasculáris megbetegedésekre hajlamosító RR genotípus gyakoribb jelenlétével, és az atherogenezis rizikófaktorainak emelkedett szintjével.

A *PON1* státusz (aktivitás és polimorfizmus) alkalmas a *korai atherogenezis* kialakulásának jelzésére.